

β-Lactamase 억제작용이 기대되는 7-Arylidene Cephalosporanate 유도체의 합성

이종민 · 임철부 · 임채우[#]

중앙대학교 약학대학 의약화학 교실

(Received June 14, 2008; Revised July 8, 2008)

Synthesis of 7-Arylidene Cephalosporanates for β-Lactamase Inhibitor

Jong Min Lee, Chul Bu Yim and Chaeuk Im[#]

Division of Medicinal Chemistry, College of Pharmacy, Chung-ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract — The synthesis of 7-arylidene cephalosporanates for β-lactamase inhibitor was described. The reactions of substituted benzyl halides [1]~[3] with triphenylphosphine gave triphenylphosphonium chlorides [4]~[6]. These phosphonium salts were treated with n-butyllithium to give ylides, which were reacted with 7-oxocephalosporanate [7] by Wittig reaction to afford the 7-exomethylene cephalosporanates [8]~[10]. These cephalosporanates were oxidized to cephalosporanate sulfones [11]~[13] with mCPBA. The deprotection of benzhydryl cephalosporanate [8]~[13] with AlCl₃ and NaHCO₃ gave sodium salts of 7-arylidene cephalosporanates [14]~[19].

Keywords □ 7-arylidene cephalosporanates, β-lactamase inhibitors

임상에서 사용되고 있는 항생제 가운데 사용빈도가 높은 cephalosporin계 항생제에 대한 내성균의 출현으로 기존 항생제의 약효가 감소하여 내성균에 사용할 수 있는 새로운 항생제 개발의 필요성이 끊임없이 제기되고 있다. 세균의 일반적인 내성 기전에는 β-lactamase라는 효소를 내성균이 분비하여 β-lactam 고리를 가수분해하고 항생제의 약효를 제거하거나, 항생제의 작용점인 Penicillin Binding Protein(PBP)를 변화시켜서 항생제가 작용점에 결합하지 못하게 하거나, 또는 세균막을 변화시켜서 항생제가 세균으로 들어오지 못하게 하는 내성기전 등이 있다. 이런 내성 기전 가운데 내성균의 β-lactamase 생산이 널리 보고되고 있다.^{1,2)} β-Lactamase를 생산하는 내성균을 치료하는 방법으로 β-lactamase 효소에 안정한 항생제를 개발하는 방법이 있으나, 이들도 곧 새로운 β-lactamase 효소에 파괴되는 경향을 보여주고 있다. 내성균을 치료할 수 있는 보다 근본적인 방법은 β-lactamase 효소를 억제하는 β-lactamase 억제제를 개발하고, β-lactam 항생제와 병용 투여하여 β-lactam 항생제를 β-lactamase 효소로부터 보호하는 것이다.

현재 임상에서 사용하는 β-lactamase 억제제로 clavulanic acid,^{3,4)} sulbactam⁵⁾ 및 tazobactam⁶⁾이 개발되어 사용되고 있다. 그러나 지금까지 연구된 β-lactamase 억제제는 대부분 penicillin 구조의 화합물이고 주로 penicillin계 항생제를 보호하지만, 현재 임상에서 많이 쓰고 있는 cephalosporin계 항생제의 보호에는 미흡하다. 그리고, cephalosporanate 구조의 β-lactamase 억제제는 소수만 문헌에 보고되고 있다.⁷⁻¹⁰⁾ 일부 논문에서 β-lactamase 억제제로 penicillin의 6번 위치에 alkylidene기가 도입된 화합물^{11,12)}과 cephalosporin의 7번 위치에 alkylidene기가 도입된 화합물들¹³⁾이 합성되었으며, 이들은 β-lactamase 효소에 억제 효과 있다고 보고되고 있다. 따라서 저자들은 이들 화합물의 alkylidene 구조를 주목하고, cephalosporin 구조의 β-lactamase 억제제를 개발할 목적으로 cephalosporin의 7번 위치에 arylidene 구조를 갖고 있는 7-arylidene cephalosporanate 유도체를 합성하였다.

실험 방법

시약 및 기기

본 실험에서 사용된 시약들은 Aldrich사와 Fluka사의 것을 사용하였고, 각종 용매는 특급시약을 사용하였다. TLC는 Merck silica gel 60 F₂₅₄(thickness 0.2 μm)를 사용하였고, reverse

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-820-5603 (팩스) 02-816-7338
(E-mail) chaeukim@cau.ac.kr

TLC에는 Merck RP-18F_{254S}(thickness 0.25 mm)를 사용하였다. Spot는 UV Lamp로 확인하였고, 용점측정은 Büchi Melting point B-540을 사용하였다. Column chromatography는 silica gel 60(Merck type 9355, 230~400 mesh)을 이용하였고, reverse column chromatography는 Comosil 75 C₁₈-OPN(42~105 μ, Nacalaitesque, Jaspan)을 사용하였다. ¹H-NMR spectra는 Varian Gemini 2000(300 MHz)을 사용하여 얻었으며, CDCl₃의 경우 TMS(tetramethylsilane)를 내부 표준물질로 이용하였고 DMSO-d₆의 경우 잔류하는 DMSO를 내부 표준물질로 사용하였다. 질량분석은 JEOL JMS-AX 505WA를 사용하여 얻었고, IR spectra는 Jasco FT/IR 300E로 측정하였다.

7-Arylidene cephalosporanate 유도체의 합성에서 중요한 중간체인 benzhydryl 7-oxocephalosporanate [7]는 문헌에 있는 방법으로 합성하였다.^{13,14)}

4-Methoxybenzylchloride [1]의 합성

4-Methoxybenzyl alcohol 12 mL(0.10 mol)에 *c*-HCl 24 mL을 가하여 15분간 교반한다. 유기층을 분리하고 calcium chloride를 가하여 30분간 방치한 후, 여과하여 미황색의 액체 13.8 g(92%)를 얻었다. Rf=0.60(ethylacetate : hexane=2 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 3115, 1470; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 3.79(s, 3H), 4.37(s, 2H), 6.93~7.12(m, 4H).

4-Methoxybenzyltriphenylphosphoniumchloride [4]의 합성

4-Methoxybenzylchloride [1] 5.0 g(0.03 mol)를 무수 THF에 용해하고, triphenylphosphine 7.7 g(0.03 mol)를 가하여 10시간 동안 가열 환류한 후, 반응액을 냉각하여 침전물을 얻었다. 침전물을 ether로 세척하고, 건조하여 백색의 화합물 7.3 g(54%)를 얻었다. m.p : 243~244°C; Rf=0.53(methanol : ethylacetate=1 : 1); IR (KBr) cm⁻¹: 2867, 1506; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 3.73(s, 3H), 5.39(d, 2H, *J*=13.8 Hz), 6.65(d, 2H, *J*=8.7 Hz), 7.02(d, 2H, *J*=8.7 Hz), 7.61~7.79(m, 15 H).

동일한 방법을 사용하여 [5], [6]의 화합물을 합성하였다.

3,5-Dimethylbenzyltriphenylphosphoniumchloride [5]의 합성

89% yield; mp: 319~320°C; Rf=0.69(methanol : ethylacetate=1 : 1); IR (KBr) cm⁻¹: 2848, 1438; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 2.08(s, 6H), 5.39(d, 2H, *J*=14.1 Hz), 6.58(s, 2H), 6.84(s, 1H), 7.62~7.81(m, 15H).

9-Anthracynyltriphenylphosphoniumchloride [6]의 합성

67% yield; mp: 285~286°C; Rf=0.68(methanol : ethylacetate

=1 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 3105, 1483; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 6.42(d, 2H, *J*=14.1 Hz), 7.12(m, 2H), 7.24(m, 3H), 7.39~7.61(m, 15H), 7.85(d, 2H, *J*=8.4 Hz), 7.91(d, 2H, *J*=9.0 Hz).

Benzhydryl 7-[(Z)-4-methoxybenzylidene]cephalosporanate [8]의 합성

4-Methoxybenzyltriphenylphosphonium chloride [4] 1510 mg(3.50 mmol)을 무수 THF(5 mL)에 용해한 후, -78°C에서 2 N *n*-butyllithium 1.75 mL(3.50 mmol)을 가하고 1시간 동안 반응하여 자주색의 ylide 화합물을 얻었다. -78°C를 유지하면서 이 반응액을 benzhydryl 7-oxocephalosporanate [7] 1.5 g(3.50 mmol)의 무수 THF(15 mL) 용액에 가하고 10분간 반응하였다. 반응액에 포화 NH₄Cl(25 mL) 용액을 가하여 반응을 중지시키고 EtOAc로 추출한 후, 유기층을 모아서 중류수(40 mL)로 세척하고 무수 MgSO₄로 건조하여 농축하였다. Silicagel column chromatography(ethyl acetate : hexane=1 : 1)로 정제하여 노란색의 유상화합물 540 mg(28%)를 얻었다. Rf=0.64 (ethylacetate : hexane=3 : 1); IR(NaCl, neat) cm⁻¹: 2940, 1741, 1455, 1234; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 2.04(s, 3H), 3.39(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 3.59(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 3.82(s, 3H), 4.70(d, 1H, *J*=12.0 Hz), 4.91(d, 1H, *J*=12.0 Hz), 5.46(s, 1H), 7.01(s, 1H), 7.14(s, 1H), 7.27~7.49(m, 14H).

화합물[8]과 동일한 방법을 사용하여 [9], [10]의 화합물을 합성하였다.

Benzhydryl 7-[(Z)-3,5-dimethylbenzylidene]cephalosporanate [9]의 합성

35% yield; Rf=0.60(ethylacetate : hexane=3 : 1); IR(NaCl, neat) cm⁻¹: 2922, 1740, 1495, 1230; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 2.02(s, 3H), 2.34(s, 3H), 3.38(d, 1H, *J*=15.5 Hz), 3.62(d, 1H, *J*=15.5 Hz), 4.62(d, 1H, *J*=11.5 Hz), 4.90(d, 1H, *J*=11.5 Hz), 5.48(s, 1H), 7.02(s, 1H), 7.13(s, 1H), 7.27~7.50(m, 13H).

Benzhydryl 7-[(Z)-9-anthracynylidene]cephalosporanate [10]의 합성

33% yield; Rf=0.68(ethylacetate : hexane=1 : 1); IR(NaCl, neat) cm⁻¹: 1736, 1230; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ: 2.04(s, 3H), 3.02(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 3.16(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 4.59(d, 1H, *J*=14.5 Hz), 4.83(d, 1H, *J*=14.5 Hz), 5.01(s, 1H), 7.08(s, 1H), 7.26(s, 1H), 7.27~7.57(m, 15H), 8.06(d, 2H, *J*=9.6 Hz), 8.12 (d, 2H, *J*=6.9 Hz).

Benzhydryl 7-[*(Z*)-4-methoxybenzylidene]cephalosporanate sulfone [11]의 합성

Benzhydryl 7-[*(Z*)-4-methoxybenzylidene]cephalosporanate [8] 320 mg(0.60 mmol)를 dichloromethane(10 ml)와 pH 6.4 phosphate buffer 용액(10 ml)에 용해하고 *m*CPBA(77%, *m*-Chloroperoxybenzoic acid) 532 mg(2.38 mmol)을 가한 후, 상온에서 40분간 교반하였다. Ether(50 ml)를 이용하여 추출하고 NaHCO₃ 포화용액(30 ml)으로 세척하고 무수 MgSO₄로 건조하여 농축한 후, column chromatography로 정제하여 화합물 [11] 190 mg(56%)를 얻었다.

Rf=0.38(ethylacetate : hexane=3 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 1732, 1515, 1259; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ : 2.05(s, 3H), 3.79(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 3.86(s, 3H), 4.01(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 4.68(d, 1H, *J*=13.8 Hz), 5.02(d, 1H, *J*=13.8 Hz), 5.58(s, 1H), 6.99(s, 1H), 7.26(s, 1H), 7.30~7.65(m, 14H).

동일한 방법으로 [12], [13]의 화합물을 합성하였다.

Benzhydryl 7-[*(Z*)-3,5-dimethylbenzylidene]cephalosporanate sulfone [12]의 합성

83% yield; Rf=0.24(ethylacetate : hexane=2 : 3); IR(KBr) cm⁻¹: 1697, 1574, 1280; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ : 2.05(s, 3H), 2.34(s, 6H), 3.82(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 4.10(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 4.66(d, 1H, *J*=14.2 Hz), 5.03(s, 1H, *J*=14.2 Hz), 5.60(s, 1H), 6.99(s, 1H), 7.10(s, 1H), 7.26~8.10(m, 13H).

Benzhydryl 7-[*(Z*)-9-anthracylidene]cephalosporanate sulfone [13]의 합성

86% yield; Rf=0.50(ethylacetate : hexane=1 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 1698, 1290; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ : 2.05(s, 3H), 3.45(d, 1H, *J*=18.6 Hz), 3.62(d, 1H, *J*=18.6 Hz), 4.58(d, 1H, *J*=13.8 Hz), 4.95(d, 1H, *J*=13.8 Hz), 5.84(s, 1H), 6.82(s, 1H), 7.08(s, 1H), 7.26~8.10(m, 14H).

Sodium 7-[*(Z*)-4-methoxybenzylidene]cephalosporanate sulfone [14]의 합성

Benzhydryl 7-[*(Z*)-4-methoxybenzylidene]cephalosporanate [8] 250 mg(0.47 mmol)을 무수 dichloromethane(10 ml)에 용해하고 -78°C를 유지하면서 무수 anisole 450 mg(4.18 mmol)을 가한 후, AlCl₃ 136 mg을 가하여 30분간 반응하였다. NaHCO₃ 344 mg을 녹인 수용액(20 ml)과 ethylacetate(20 ml)을 반응액에 가하고 5분간 교반한 후, 반응액을 여과하여 침전물을 제거하였다. 수층을 분리하여 농축하고 역상 column chromatography (acetonitrile : H₂O=1 : 3)를 이용하여 정제한 후, 동결 건조하여 미황색의 화합물 110 mg(53%)을 얻었다.

Rf=0.41(acetonitrile : H₂O=1 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 1737, 1603, 1259; ¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.02(s, 3H), 3.28(d, 1H, *J*=17.1 Hz), 3.58(d, 1H, *J*=17.1 Hz), 3.81(s, 3H), 4.77(d, 1H, *J*=11.7 Hz), 4.96(s, 1H, *J*=11.7 Hz), 5.72(s, 1H), 7.03(d, 2H, *J*=8.7 Hz), 7.10(s, 1H), 7.58(d, 2H, *J*=8.7 Hz).

화합물 [14]를 합성하는 방법으로 화합물 [15]~[19]를 합성하였다.

Sodium 7-[*(Z*)-3,5-dimethylbenzylidene]cephalosporanate [15]의 합성

61% yield; Rf=0.55(acetonitrile : H₂O=1 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 1740, 1617, 1238; ¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.01(s, 3H), 2.51(s, 6H), 3.25(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 3.53(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 4.77(d, 1H, *J*=12.0 Hz), 4.96(d, 1H, *J*=12.0 Hz), 5.80(s, 1H), 7.42(s, 1H), 7.71(m, 1H), 7.82(s, 2H).

Sodium 7-[*(Z*)-9-anthracylidene]cephalosporanate [16]의 합성

60% yield; Rf=0.53(acetonitrile : H₂O=1 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 1741, 1617, 1361; ¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.01(s, 3H), 3.25(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 3.53(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 4.77(d, 1H, *J*=12.0 Hz), 4.96(d, 1H, *J*=12.0 Hz), 5.79(s, 1H), 7.41(s, 1H), 7.71~8.15(m, 9H).

Sodium 7-[*(Z*)-4-methoxybenzylidene]cephalosporanate sulfone [17]의 합성

67% yield; Rf=0.38(acetonitrile : H₂O=1 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 1750, 1601, 1262; ¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.05(s, 3H), 3.83(s, 3H), 3.96(d, 1H, *J*=17.4 Hz), 4.34(d, 1H, *J*=17.4 Hz), 4.75(d, 1H, *J*=14.0 Hz), 4.98(d, 1H, *J*=14.0 Hz), 6.40(s, 1H), 7.01~7.11(m, 4H), 7.30~7.48(m, 4H).

Sodium 7-[*(Z*)-3,4-dimethylbenzylidene]cephalosporanate sulfone [18]의 합성

67% yield; Rf=0.68(acetonitrile : H₂O=1 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 1747, 1559; ¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.05(s, 3H), 2.28(s, 6H), 3.86(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 4.02(d, 1H, *J*=18.0 Hz), 4.73(d, 1H, *J*=12.3 Hz), 4.97(d, 1H, *J*=12.3 Hz), 6.33(s, 1H), 7.12(s, 1H), 7.36(m, 2H), 7.82(m, 1H).

Sodium 7-[*(Z*)-9-anthracylidene]cephalosporanate sulfone [19]의 합성

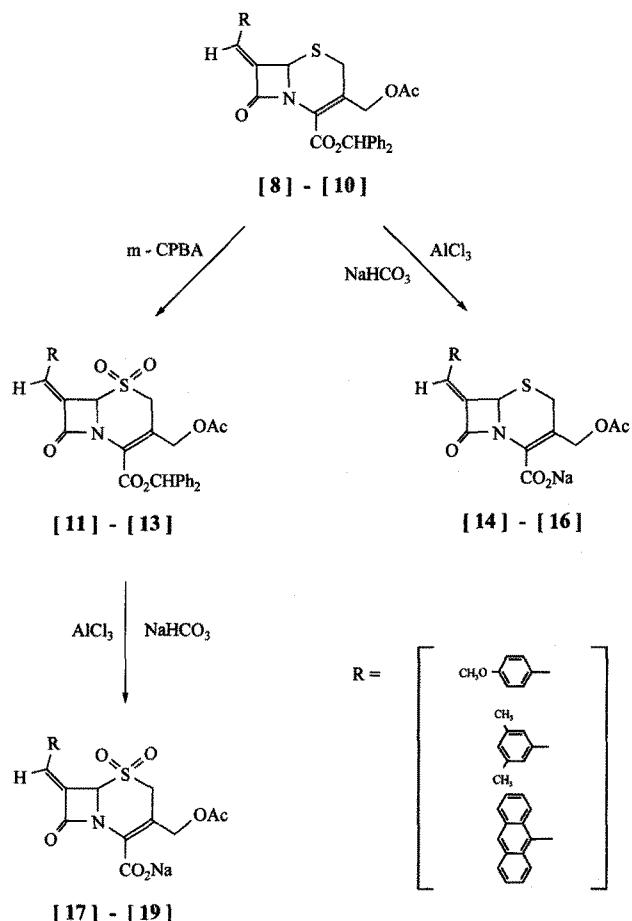
78% yield; Rf=0.54(acetonitrile : H₂O=1 : 1); IR(KBr) cm⁻¹: 1600, 1558; ¹H-NMR(300 MHz, DMSO-*d*₆) δ : 2.51(s, 3H),

3.88(d, 1H, $J=18.0$ Hz), 4.10(d, 1H, $J=18.0$ Hz), 4.52(d, 1H, $J=13.8$ Hz), 4.85(d, 1H, $J=13.8$ Hz), 6.25(s, 1H), 7.30~7.87(m, 10H).

결과 및 고찰

치환된 benzyl chloride들은 triphenylphosphine과 반응하여 54~89%의 수득율로 triphenylphosphonium chlorides [4]~[6]를 합성하였다. 이들 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 benzyl 수소는 ^{31}P 과 coupling하여 13.8~14.1 Hz의 coupling constant를 보여주었다. 이 화합물을 n-butyllithium으로 처리하여 ylide 화합물을 만든 후, 7-oxocephalosporanate [7]과 반응하여 benzhydryl 7-exomethylenecephalosporanates [8]~[10]을 28~35% 수득율로 합성하였다(Scheme 1). 이들의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 C_2 의 2개 수소는 δ 3.02~3.39에서 각각 2개의 doublet(15.5~18.0 Hz)을 보여주었고, C_3 의 CH_2 도 δ 4.59~4.70에서 각각 2개의 doublet(11.5~14.5 Hz)으로 나타났다. 그리고, C_6 의 수소는 δ 5.01~5.48에서 singlet의 peak를 보여주었다. 화합물 [8]~[10]은 E-isomer와 Z-isomer로 존재할 수 있는데 E-isomer의 경우 C_6 의 수소는 δ 4.9보다 저자장에서, Z-isomer의 경우 C_6 의 수소는 δ 5.3보다 저자장에서 peak를 보여준다고 문헌에 보고 되어있다.¹³⁾ 따라서 합성한 화합물 [8]~[10]은 Z-isomer로 생각된다.

화합물 [8]~[10]을 pH 6.4 phosphate 완충액에서 m-CPBA로 처리하여 sulfone 화합물 [11]~[13]을 56~86% 수득율로 합성하였다. Sulfone화합물의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 sulfone의 inductive 효과 때문에 C_2 의 2개 수소는 δ 0.4~0.5 정도 저자장으로 이동하였고, C_6 의 수소도 δ 0.1~0.2 정도 저자장으로 이동하였다. Benzhydryl 화합물 [8]~[13]은 무수 anisole과 AlCl_3 로 처리하여 free carboxylic acid 화합물로 deprotection 시킨 후, NaHCO_3 용액으로 중화하여 sodium carboxylate 화합물로 만들



Scheme 2 – Synthesis of sodium 7-arylidene cephalosporanates.

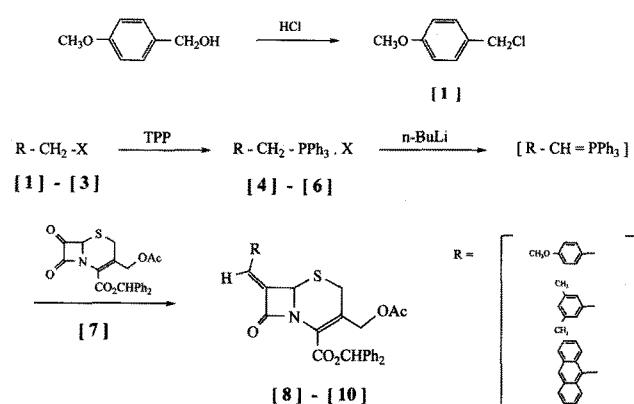
었다. 이들 화합물은 acetonitrile과 H_2O 을 이용하여 역상컬럼으로 정제한 후, 냉동 건조하여 53~87% 수득율로 sodium carboxylate 화합물 [14]~[19]를 얻었다(Scheme 2).

감사의 말씀

본 연구는 2008년도 중앙대학교 연구지원처 학술연구비의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Buynak, J. D. : The discovery and development of modified penicillin- and cephalosporin-derived β -lactamase inhibitors. *Current Medicinal Chemistry* **11**, 1951 (2004).
- 2) Hanaki, H., Yamazaki, H., Harada, H., Kubo, R., Kobayashi, T., Atsuda, K. and Sunakawa, K. : The synthesis of 7-substituted-3-dinitrostyryl cephalosporins and their ability for detecting extended spectrum β -lactamases. *Journal of Antibiotics* **58**, 69 (2005).



Scheme 1 – Synthesis of benzhydryl 7-arylidene cephalosporanates.

- 3) Reading, C. and Farmer, T. : The inhibition of β -lactamases from gram-negative bacteria by clavulanic acid. *Biochem. J.* **199**, 779 (1981).
- 4) Hunter, P. A., Cloeman, K. J. and Taylor, D. : *In vitro* synergistic properties of clavulanic acid with ampicillin, amoxicillin, ticarcillin. *J. Antimicrob. Chemother.* **6**, 455 (1980).
- 5) English, A. R., Retsema, J. A., Girard, A. E., Lynch, J. E. and Barth, W. E. : CP-45,899, β -lactamase inhibitor that extends the antibacterial spectrum of β -lactams : Initial bacteriological characterization. *Antimicrob. Agents Chemother.* **14**, 414 (1978).
- 6) Micetich, R. G., Maiti, S. N., Spevak, P., Hall, T. W., Yamabe, S., Ishida, N., Tanaka, M., Yamazaki, T., Nakai, A. and Ogawa, K. : Synthesis and β -lactamase inhibitory properties of 2 β -[(1,2,3-triazol-1-yl)methyl]-2 α -methylpenam-3 α -carboxylic acid 1,1-dioxide and related triazolyl derivatives. *J. Med. Chem.* **30**, 1469 (1987).
- 7) De A. F., Attorrese, G., Cavicchio, G., Ciampa, S., Di, T. A., Fattori, D., Nicoletti, R. and Domenici, E. : Synthesis and preliminary biological evaluation of 3'-substituted cephem sulfones as potential β -lactamase inhibitors. *Euro. J. Org. Chem.* **16**, 3075 (2001).
- 8) Buynak, J. D. and Chen, H. : Cephalosporin-derived mercaptans as inhibitors of serine and metallo β -lactamases. *U.S. Pat.* 2006178357 A1 20060810 (2006).
- 9) Buynak, J. D., Vogeti, L., Doppalapudi, V. R., Solomon, G. M. and Chen, H. : Cephalosporin-derived inhibitors of β -Lactamase. Part 4: The C3 substituent. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **12**, 1663 (2002).
- 10) Buynak, J. D., Doppalapudi, V. R., Rao, A. S., Nidamarthy, S. D. and Adam, G. : The synthesis and evaluation of 2-substituted-7-(alkylidene) cephalosporin sulfones as β -lactamase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Letters* **10**, 847 (2000).
- 11) Mansour, T. S. and Venkatesan, A. M. : Bicyclic 6-alkylidene-penems as class-D β -lactamase inhibitors. *U.S. Pat.* 2005686347 20050601 (2006).
- 12) Venkatesan, A. M., Mansour, T. S., Abe, T., Mihira, A., Agarwal, A., Ushiroguchi, H., Gu, Y., Tamai, S. and Sum, F. W. : Preparation of heterotricyclic 6-alkylidene-penems as β -lactamase inhibitors for use against bacterial infections or diseases. *U.S. Pat.* 2002377051 20020501 (2003).
- 13) John, D. B., Kuangcong, W., Brian, B., Diphti, K., Ling, H., Hanh, K. N. and Christa, L. C. : Synthesis and biological activity of 7-alkylidene cephems. *J. Med. Chem.* **38**, 1022 (1995).
- 14) John, E. G., Michael, D. C., Subramanian, N. and Mark, H. S. : Nucleophilic Sn2 displacement on penicillin 6- and cephalosporin-7-triflate; 6 β -Iodopenicillanic acid. A new β -lactamase inhibitor. *Tetrahedron Letter*, **21**, 2991 (1980).